

RESPUESTA DE UNA POBLACIÓN DE MALEZAS DE *Lolium perenne* L. AL USO CONTINUO DE DOSIS SUB-RECOMENDADAS DE GLIFOSATO

Yannicari M^{1*}, Istilart C², Giménez D¹, Acciaresi H³, Castro AM¹

¹ INFIVE (UNLP-CONICET), Diag. 113 y 61, La Plata.

Tel.: +54-0221-483-8168 - marcosyannicari@conicet.gov.ar.

² CEI Barrow (MAA-INTA) RN 3 km 487, Tres Arroyos. +54-02983-43-1081 - cistilart@correo.inta.gob.ar

³ FCAYF (UNLP), 60 y 119, La Plata. +54-0221-423-6758 - acciaresi@agro.unlp.edu.ar

El ryegrass (*Lolium spp.*) es una de las principales malezas de cereales de invierno del sur bonaerense, su manejo se ha basado en el uso de glifosato, a menudo a dosis inferiores a las recomendadas. Desde el 2006, se advierte en esa región la sobrevivencia a glifosato de *Lolium perenne* L., luego de una historia de más de 10 años de utilización del herbicida. Se evaluó el comportamiento de plantas problema ante aplicaciones de diferentes dosis de glifosato. Contrastando con plantas susceptibles, las plantas problema tratadas con glifosato resultaron insensibles a dosis normalmente letales. Se determinó que para igualar la eficiencia de control en plantas resistentes respecto a susceptibles se requiere incrementar la dosis 10,8 veces. Se cuantificó la acumulación de shikimato en hojas a las 72h post-aplicación. Este metabolito es indicador de la susceptibilidad al glifosato, detectando diferencias significativas entre ambas poblaciones. Se concluye que en la población problema existen plantas resistentes a glifosato. Estas se habrían incrementado su frecuencia resultado de una continua presión de selección con el herbicida. Este antecedente indica que es imprescindible garantizar la rotación de principios activos para el empleo del control químico como parte del manejo integrado de malezas.

Introducción

Durante los últimos años, se han producido cambios importantes en las poblaciones de malezas de los sistemas de producción del sur de la provincia de Buenos Aires (Istilart, 2005). El rye grass ha resultado ser una de las principales malezas de barbechos y cereales de invierno, relevado frecuentemente en esa región (Istilart, 1991). El manejo de esta maleza, se basa en el control químico con glifosato durante el período de barbecho previo a la siembra de los cultivos.

En la campaña 2007-2008, se advirtió en el partido de Coronel Dorrego, sur de la provincia de Buenos Aires, la presencia de una población de *Lolium perenne* L. presumiblemente insensible a glifosato. En la región, este herbicida es ampliamente utilizado previo a la siembra de trigo. El lote había sido trabajado bajo el sistema de siembra directa durante trece años, con un promedio de tres aplicaciones de glifosato anuales (dosis de 480 a 960 g e.a.ha⁻¹). La utilización repetida de herbicidas de similares tipos fisiológicos de acción, fácilmente lleva a una desfavorable selección de malezas. La selección intraespecífica puede favorecer el aumento de la frecuencia de plantas resistentes al herbicida aplicado (Hakansson, 2003). La WSSA (Weed Science Society of America) define la **resistencia** a herbicidas como la habilidad de una planta de sobrevivir y reproducirse exitosamente luego de exponerla a dosis normalmente letales del herbicida en cuestión.

Dentro del género *Lolium spp.*, a nivel mundial, existen antecedentes de resistencia a glifosato en poblaciones de las especies: *L. multiflorum* y *L. rigidum*; cuyos mecanismos de resistencia aún son discutidos y sólo en algunos casos han sido dilucidados (Perez-Jones *et al.*, 2007).

El **objetivo** del trabajo fue *evaluar la sensibilidad/resistencia a glifosato de una población problema de Lolium perenne L. del sur de la provincia de Buenos Aires sometida a más de diez años de presión con glifosato*.

Material y métodos

Se trabajó con la descendencia de plantas de *Lolium perenne* L. provenientes de la población problema identificada en campo. El control de rye grass perenne sensible se aisló de una población de la zona, sin historial de glifosato. Los ensayos se realizaron en las instalaciones del INFIVE (UNLP-CONICET).

Ensayo de dosis-respuesta de germinación en cajas de petri: Se evaluó el comportamiento de la germinación y crecimiento de la plúmula de las semillas problema y las susceptibles. Se colocó una serie de 30 semillas por caja de petri con papel de filtro, agua destilada y una alícuota de 5 ml de soluciones de glifosato en agua a razón de 0; 10; 20; 40; 80 y 160 mg de e. a. L⁻¹ por tratamiento, realizando 3 repeticiones. Se incubaron durante 7 días con alternancia térmica: de 25±2°C y 15±3°C y con un fotoperíodo de 12h. Por medio del modelo log-logístico propuesto por Streibig *et al.* (1993), se calculó la dosis a la cual se redujo al 50% el porcentaje de germinación (DL50) y la longitud del coleoptilo (GR50) respecto al testigo. En base a estas dosis, se calculó el índice de resistencia (IR).

Ensayo de plantas cultivadas en macetas en condiciones controladas: Se sembraron semillas de las plantas problema y susceptible en macetas de 100cm³ con tierra estéril de manera de lograr 2 plántulas por pote. Se mantuvieron en invernadero, en condiciones semi-controladas de temperatura y con fertirrigación. Cuando las plantas tenían de 2 a 3 macollos, se iniciaron los tratamientos realizando 15 repeticiones y utilizando cada maceta como unidad de repetición.

Los tratamientos consistieron en la aplicación de una pulverización de glifosato (Roundup® 48%) con las siguientes dosis: 0; 360; 720; 1440 y 2880 g e. a. ha⁻¹.

Utilizando el instrumental Minolta® SPAD 502 se midió indirectamente el contenido de clorofila de la penúltima hoja expandida luego de 2, 3, 7 y 10 días de la aplicación de glifosato para evaluar el efecto fitotóxico del herbicida.

Se cuantificó la concentración de shikimato utilizando la técnica descrita por Singh y Shaner (1998), a las 72h post-aplicación de la dosis recomendada de herbicida.

Se evaluó el porcentaje de plantas controladas por tratamiento a los 15 días de la aplicación. Se confeccionaron curvas de dosis-respuesta por regresión no lineal utilizando el modelo log-logístico (Streibig *et al.*, 1993) para estimar la DL50 en ambas poblaciones y el índice de resistencia. Se utilizó el software Statistica (StatSoft, Inc.).

Resultados y discusión

Ensayo de dosis-respuesta de germinación en cajas de petri: Las semillas evaluadas de ambas poblaciones presentaron diferente comportamiento considerando la germinación en función de distintas dosis de glifosato. La DL50 calculada para la población resistente fue de 138 mg e. a. L⁻¹, para la población susceptible la DL50 calculada fue de 42 mg e.a. L⁻¹. La relación entre ambas DL50 indica que se requiere incrementar 3,2 veces la dosis de glifosato en resistentes para obtener el mismo porcentaje de inhibición de la germinación que en plantas susceptibles (Tabla 1).

Tabla 1: Dosis de inhibición del 50% de la germinación (DL50) y del crecimiento de la plúmula (GR50) para las poblaciones susceptible y resistente. Se presentan los coeficientes de determinación de los modelos log-logísticos calculados (R²) y los valores del índice de resistencia para cada ensayo.

Población	Germinación		Crecimiento de plúmula	
	DL50 (mg e. a. L ⁻¹)	R ²	GR50 (mg e. a. L ⁻¹)	R ²
<i>Susceptible</i>	42	0,98	9,3	0,92
<i>Resistente</i>	138	0,96	41,5	0,91
<i>Índice de Resistencia</i>	3,2		4,4	

El efecto de la máxima dosis empleada (160 mg e. a. L⁻¹) en la población problema no difirió estadísticamente (p<0,05) en la longitud del coleoptile respecto al efecto de la dosis de 20 mg e. a. L⁻¹ en el susceptible. Mediante la relación GR50 resistente/GR50 susceptible se determinó que el IR es de 4,4 (Tabla 2).

Ensayo de plantas cultivadas en macetas en condiciones controladas: A los 7 días de realizada la aspersión con glifosato, en la población susceptible se registró la disminución del contenido de clorofila de significancia estadística (p<0,05), independientemente de la dosis empleada. En contraste a esto, la población resistente no presentó diferencias entre tratamientos a lo largo del tiempo (Figura 1). En esta población, el efecto fitotóxico del herbicida no se reflejó en síntomas cloróticos hasta los diez días observados.

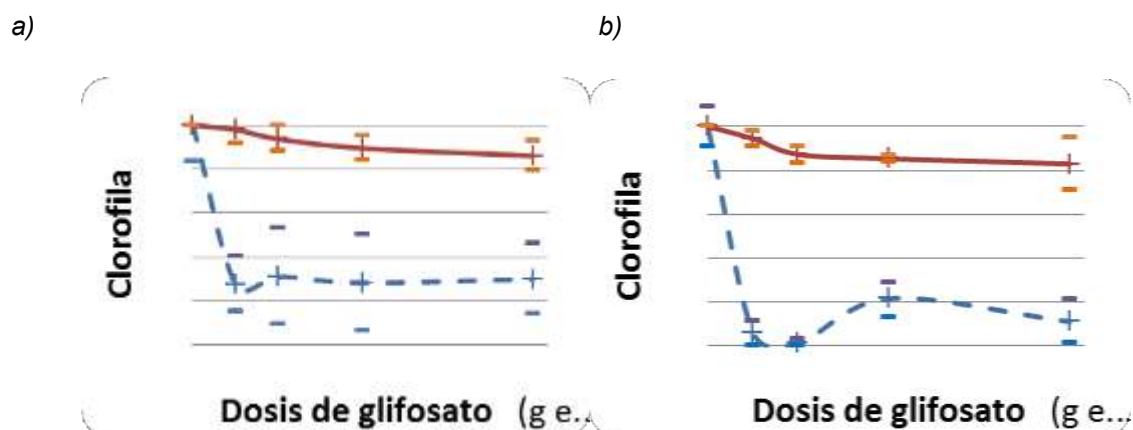


Figura 1: Efecto de la dosis de glifosato sobre el valor relativo de clorofila (comparaciones con el tratamiento testigo sin herbicida) de la población resistente y susceptible:
a) A los 7 días post-aplicación.
b) A los 10 días post-aplicación. Se presenta el intervalo de confianza (95%).

- Porcentaje relativo de clorofila del tercio medio de la penúltima hoja expandida de la población susceptible.
- Porcentaje relativo de clorofila del tercio medio de la penúltima hoja expandida de la población resistente.

La dosis de glifosato recomendada provocó un incremento del nivel de shikimato en hojas de plantas susceptibles significativamente por encima a los valores de éste ácido detectados en la población resistente. La concentración de shikimato en plantas susceptibles, se triplicó respecto a los valores basales de este metabolito detectado en plantas controles. En este sentido, las plantas resistentes tratadas no presentaron diferencias significativas respecto a sus controles sin herbicida (Figura 2).

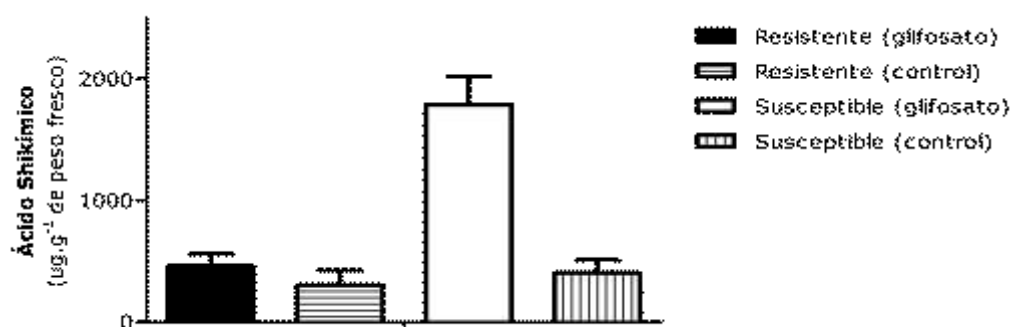


Figura 2: Acumulación de ácido shikímico en hojas de plantas susceptibles y resistentes a 3 días de la aplicación de glifosato (900g e. a. ha⁻¹) y controles sin herbicida. Las barras verticales representan el error estándar de la media.

Considerando el porcentaje de plantas, mediante la relación de las DL50 calculadas a los 15 días post-aplicación se determinó el IR encontrando que es necesario incrementar la dosis de glifosato 10,8 veces en la población resistente respecto a la susceptible para lograr un efecto similar en el control de individuos (Figura 3 y Figura 4). En Australia, Powes *et al.* (1998) detectaron similares índices de resistencia en poblaciones de *Lolium rigidum*.

Los resultados presentados son similares a los publicados por Perez-Jones y Kogan (2003), quienes detectaron resistencia a glifosato en poblaciones chilenas de *Lolium multiflorum* luego de diez años de uso de ese herbicida.

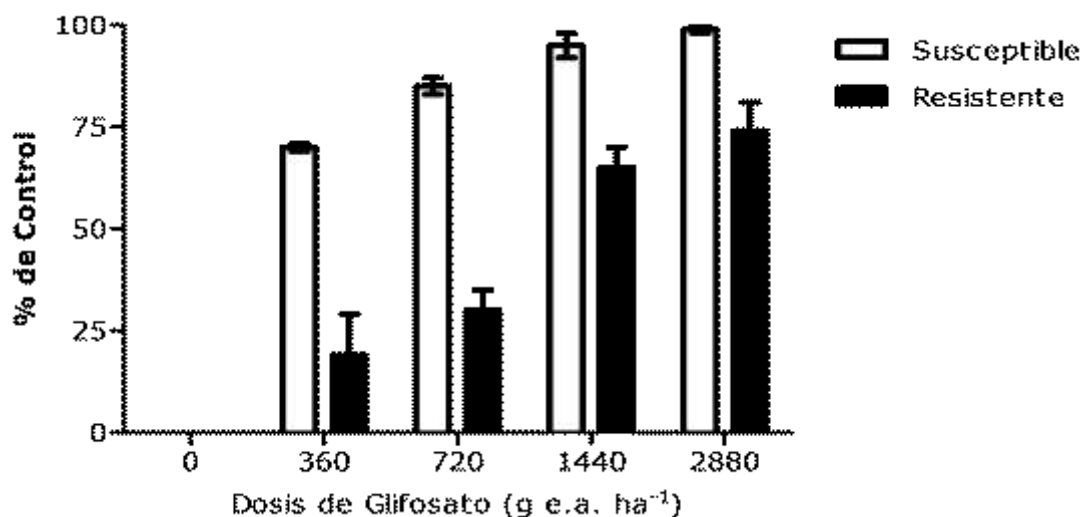


Figura 3: Porcentaje de plantas susceptibles y resistentes controladas a los 15 días post-aplicación de diferentes dosis de glifosato. Las barras verticales representan el error estándar de la media.



Figura 4: Planta susceptible (a) y resistente (b) a los 15 días post-aplicación de 1440 g e.a de glifosato.ha⁻¹ (dosis recomendada).

Conclusiones

Con el estudio de la descendencia de la población de *Lolium perenne* L. problema se advierte la aparición de un nuevo caso de resistencia a glifosato en Argentina. Cumpliendo con los objetivos establecidos, se detectó el comportamiento diferencial de la población resistente frente al susceptible evaluado. La presión de selección ejercida por un uso continuo de glifosato, a dosis inferiores a las recomendadas, habría contribuido al incremento de la frecuencia de estos biotipos de baja sensibilidad al herbicida.

Este antecedente indica que es imprescindible garantizar la rotación de principios activos para el empleo del control químico como parte del manejo integrado de malezas.

Bibliografía

- HAKANSSON, S. 2003. Weeds and weed management on arable land. An ecological approach. CABI Publishing. Cambridge. U.K. 274 pp.
- ISTILART, C. 1991. Relevamiento de malezas en cultivos de trigo en los partidos de Tres Arroyos, G. Chaves y Necochea. XII Reunión ASAM 2:87-96.
- ISTILART, C. M. (2005). Relevamiento de malezas en girasol en el centro sur de la provincia de Buenos Aires. XVII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas; I Congreso Iberoamericano de Ciencia de las Malezas. Cuba.
- STREIBIG, J.; RUDEMO, M. y JENSEN, J. (1993). Dose-response curves and statistical models. En: Herbicide Bioassays. J. C. Streibig y P. Kudsk. CRC Press. Boca Raton, Florida, 29-55.
- PEREZ, A. y KOGAN, M. 2003. Glyphosate-resistant *Lolium multiflorum* in Chilean orchards. Weed Res. 43, 12-19.
- PEREZ-JONES, A.; PARK, A.; COLQUHOUN, J.; MALLORY-SMITH, C.; y SHANER, D. (2005). Identification of glyphosate resistant Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) in Oregon. Weed Science, 53, 775-779.
- PEREZ-JONES, A.; PARK K.; POLGE, N.; COLQUHOUN, J.; MALLORY-SMITH, C. (2007). Investigating the mechanisms of glyphosate resistance in *Lolium multiflorum*. Planta, 226, 395-404.
- POWLES, S. B.; LORRAINE COLWILL, D. F.; DELLOW, J. J. y PRESTON, C. 1998. Evolved resistance to glyphosate in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) in Australia. Weed Sci. 46, 604-607.
- SINGH, B. K. y SHANER, D. L. (1998). Rapid determination of glyphosate injury to plants and identification of glyphosate resistant plants. Weed Technology, 12, 527-530.